

0022

4

L'ANALYSE DU PHOSPHATE DISSOUS *
Etudes complémentaires sur la méthode au chlorure stanneux
et la méthode à l'acide ascorbique

par

B. PITON et B. VOITURIEZ

Océanographes physiciens au Centre ORSTOM de Nouméa

R é s u m é

Pendant de nombreuses années, la méthode d'analyse du phosphate dissous employée au Centre ORSTOM de Nouméa a été celle au chlorure stanneux. La recherche d'une meilleure reproductibilité des résultats fournis par cette méthode nous a cependant conduits à préciser la stabilité de la couleur développée dans les flacons en polyéthylène utilisés, puis à comparer la précision obtenue par cette méthode à celle fournie par une méthode de plus en plus utilisée, la méthode à l'acide ascorbique. Cette étude comparative a confirmé la difficulté de déterminer, avec le chlorure stanneux, un témoin des réactifs correct. Les conclusions qui découlent de ces expériences plaident en faveur de la seconde méthode, mais avec quelques modifications, en particulier le remplacement du flaconnage plastique par de la verrerie Pyrex.

A b s t r a c t

In the research of a best reproductibility of the results given by the stannous chloride method in dissolved phosphorus analysis, the stability of the colour developped in polyethylene bottles is studied. Then, the accuracy of this method is compared with the accuracy of the acid ascorbic method. This comparison has confirmed that it is difficult to determine a reagent blank with the stannous chloride. These experiences show that the acid method is better than the other one and that the polyethylene bottles must be replaced by Pyrex glass ware.

* Manuscrit reçu le 23 décembre 1967

3 - JAN. 1968

C. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 12760

ESQUISSE DU MODE OPERATOIRE DE L'ANALYSE DU PHOSPHATE DISSOUS

En moyenne 30 minutes après la remontée des bouteilles à renversement, mais dans tous les cas le plus rapidement possible, l'ion phosphate est complexé sous forme de phospho-molybdate ; le complexe est ensuite réduit soit par le chlorure stanneux, (WOOSTER et RAKESTRAW, 1951)* soit par l'acide ascorbique (MURPHY et RILEY, 1962) et l'intensité de la couleur bleue développée est mesurée au spectrophotocolorimètre.

Méthode de WOOSTER et RAKESTRAW :

La méthode employée a été décrite en détail (ROTSCHIL, H. et al., 1967). Nous ne rappellerons ici que quelques détails dont nous discuterons plus loin. Les échantillons d'eau de mer à analyser sont recueillis dans des flacons en polyéthylène, placés ensuite en bain thermostaté à une température voisine de celle du laboratoire. Lorsque les échantillons ont atteint la température du bain, on ajoute successivement les 2 réactifs : solution sulfomolybdique et chlorure stanneux. L'extinction de la solution bleue du complexe réduit est mesurée en cuves de 10 cm au spectrophotocolorimètre Beckman D.U. à 700 m μ , 10 minutes au moins et 20 minutes au plus après l'addition des réactifs (ROTSCHI, 1960). Dans cette méthode, l'intensité de la couleur développée est affectée d'un coefficient thermique important et sa stabilité dans le temps est faible.

Méthode de MURPHY et RILEY :

Cette méthode a été adaptée pour le travail à la mer par STRICKLAND et PARSONS (1965). A chaque échantillon recueilli en flacon polyéthylène et, sans attendre qu'il ait atteint la température ambiante, on ajoute un réactif composé d'un mélange de molybdate d'ammonium, d'acide sulfurique, d'acide ascorbique et de tartrate d'antimoine et de potassium. La mesure de l'extinction au spectrophotocolorimètre est faite à 885 m μ , en cuve de 10 cm, 5 minutes après addition du réactif. Dans cette méthode le développement de la couleur est indépendant de la température et elle reste stable pendant plusieurs heures ; malgré cela STRICKLAND conseille de faire toutes les lectures moins de 2 à 3 heures après le développement de la couleur.

CRITIQUE DE L'ECHANTILLONNAGE DANS LES FLACONS EN POLYETHYLENE

Divers auteurs (HASSENTEUFEL, JAGITSCH et KOCZY, 1963, REED et ROGERS, 1965) ont signalé l'absorption d'ions par des surfaces plastiques. D'après STRICKLAND et PARSONS (1965), l'échantillonnage de l'eau de mer dans des flacons en

* Voir la bibliographie in fine.

polyéthylène ne provoque qu'une perte négligeable de l'ion phosphate par absorption par la matière plastique. Mais l'addition des réactifs complexant l'ion phosphate change complètement la nature des ions en contact avec les parois du flacon et le véritable problème peut très bien n'être pas tant celui de l'absorption de l'ion phosphate par le polyéthylène entre le moment de l'échantillonnage et celui où l'on ajoute les réactifs, que celui du comportement du complexe bleu avant la lecture au spectrophotocolorimètre.

L'étude détaillée du développement de la couleur dans les flacons en polyéthylène utilisés depuis trois ans a donc été entreprise.

Influence du polyéthylène sur l'intensité de la couleur dans la méthode au chlorure stanneux

Avant d'étudier l'influence du polyéthylène sur l'intensité de la couleur développée il est bon de rappeler que, dans son étude sur la durée du palier de stabilité de la couleur, ROTSCHI (1960) a conclu qu'elle était inversement proportionnelle à la concentration du phosphate. Pour les diverses expériences effectuées, nous avons donc choisi une concentration unique de travail de 2,6 mat-g $\text{PO}_4\text{-P/m}^3$. Pour déterminer le palier de stabilité de la couleur à cette concentration, nous avons opéré comme ROTSCHI ; immédiatement après addition des réactifs à un échantillon d'eau de mer enrichie, la cuve de mesure a été remplie et l'extinction mesurée toutes les 30 secondes d'abord, puis chaque minute lorsque le palier fut atteint ; entre chaque lecture la cuve était agitée ; le palier fut atteint au bout de 10 minutes et dura 26 minutes (fig. 1a).

L'étude du développement de la couleur au contact du polyéthylène a été entreprise sur quatre flacons préalablement lavés à l'acide chlorhydrique 10 % et remplis d'une eau de mer enrichie. Après addition des réactifs et agitation, l'extinction de chaque échantillon a été mesurée toutes les 3 à 4 minutes, le contenu de la cuve étant reversé dans le flacon correspondant dès la lecture faite. La courbe moyenne de la stabilité de la couleur développée en flacon polyéthylène (fig. 1b) ne présente aucun palier ; l'extinction décroît dès la huitième minute après l'addition des réactifs. De plus, les mesures présentent une assez grande dispersion et l'extinction maximale est de 20 % plus faible que celle développée en cuve de mesure.

Par contre, 4 erlenmeyers préalablement lavés avec ClH 10 % donnent, avec une eau de mer enrichie et traitée comme dans les flacons en polyéthylène, une courbe moyenne de même forme que lorsque la couleur se développe en cuve de verre (fig. 2). De plus, la dispersion des mesures est plus faible qu'avec les flacons en polyéthylène.

Il peut donc y avoir absorption par le polyéthylène soit de l'ion phosphorique, soit du complexe phosphomolybdique, ou bien le polyéthylène peut

agir comme un inhibiteur de la formation de complexe réduit, et quelques expériences ont été entreprises pour tenter de mesurer l'absorption de l'ion phosphorique lui-même par les parois du récipient de stockage. Une eau de mer enrichie en phosphate fut stockée pendant 90 minutes d'une part dans une série d'erlenmeyers, d'autre part dans une série de flacons en polyéthylène ; toutes les couleurs furent ensuite développées dans des erlenmeyers. Par rapport à la même eau de mer enrichie mais fraîche, l'extinction de l'eau ayant séjourné dans les erlenmeyers a diminué de 6 % en moyenne, alors que celle correspondant à l'eau stockée en flacons en polyéthylène a décréu de 16 %.

On obtient le même résultat en opérant de façon identique, les erlenmeyers et les flacons en polyéthylène étant préalablement stérilisés : c'est au cours du premier quart d'heure de stockage que l'ion phosphorique est le plus rapidement absorbé.

Influence du polyéthylène sur l'intensité de la couleur dans la méthode à l'acide ascorbique

Les mêmes expériences dans lesquelles le chlorure stanneux fut remplacé par l'acide ascorbique confirment que la couleur développée en flacons polyéthylène diminue avec le temps dans la même proportion qu'avec la méthode au chlorure stanneux, soit 20 % environ en 90 minutes (fig.3) ; or la même expérience répétée avec de la verrerie en Pyrex, a indiqué que la couleur est stable au moins 24 heures.

L'absorption du complexe phosphomolybdique par le polyéthylène pourrait être suivie d'une résorption de la couleur bleue dans l'eau distillée ; à des flacons rincés rapidement après avoir contenu pendant 12 heures le complexe phosphomolybdique réduit, on a ajouté de l'eau distillée et l'on a mesuré l'extinction en fonction du temps. Bien que l'extinction de l'eau distillée ayant séjourné un très court instant dans les erlenmeyers soit plus faible que celle de l'eau des flacons en polyéthylène, il n'y a pas d'augmentation d'extinction dans le temps.

Discussion

Dans ces diverses expériences, il découle évidemment que l'échantillonnage dans des flacons en polyéthylène est à rejeter tant à cause de l'absorption possible de l'ion PO_4 entre le prélèvement et l'addition des réactifs, qu'à cause d'une diminution importante de la couleur bleue développée par l'une ou l'autre méthode. Mais il n'est pas sûr que cette décoloration soit due à une absorption du complexe par le polyéthylène. En effet, des expériences identiques à celles décrites ont été faites avec des flacons en polyéthylène neufs, n'ayant jamais servi au dosage du phosphate ; elles montrent que dans la méthode au chlorure stanneux, l'extinction présente, en fonction du temps, un palier identique en

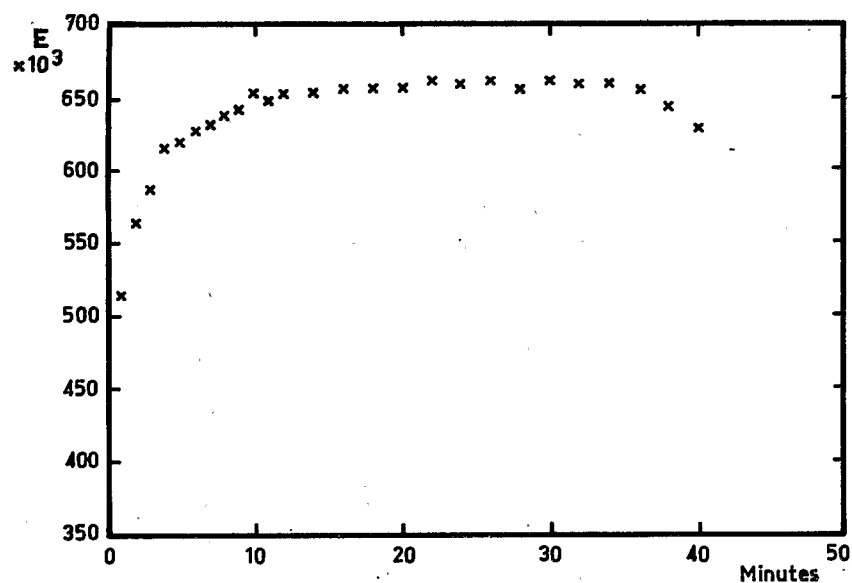


Fig. 1a : Méthode au chlorure stanneux : Evolution de l'extinction en cuve de mesure.

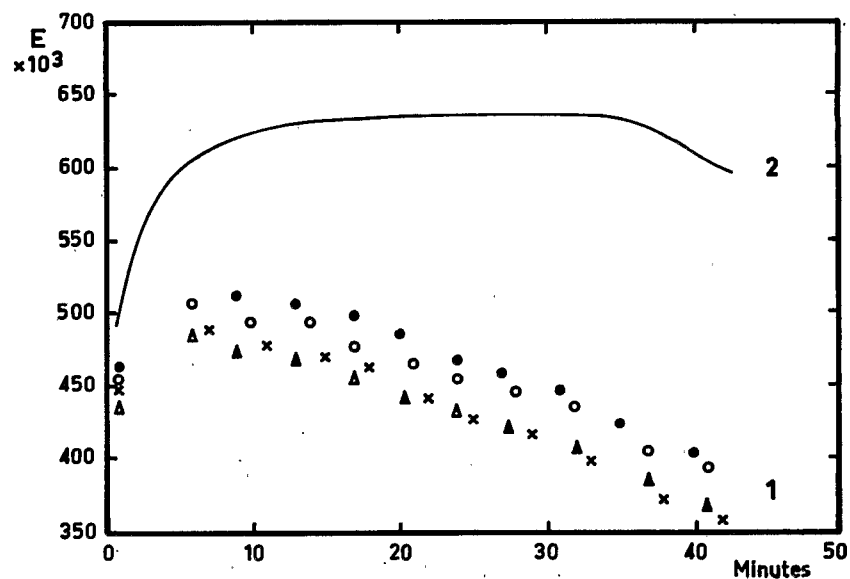


Fig. 1b : Méthode au chlorure stanneux : Evolution de l'extinction dans quatre flacons en polyéthylène (1) comparée à celle observée en cuve de mesure (2).

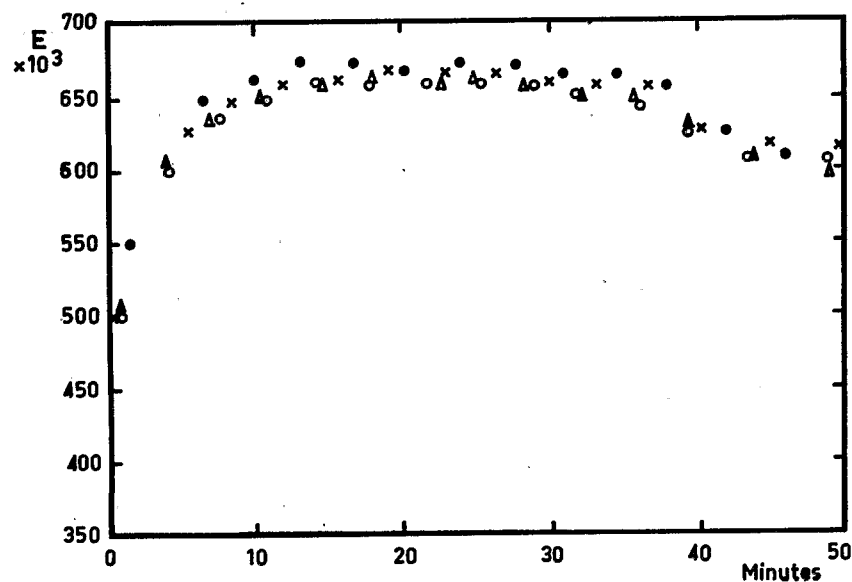


Fig. 2 : Méthode au chlorure stanneux : Evolution de l'extinction dans quatre erlénmeyers.

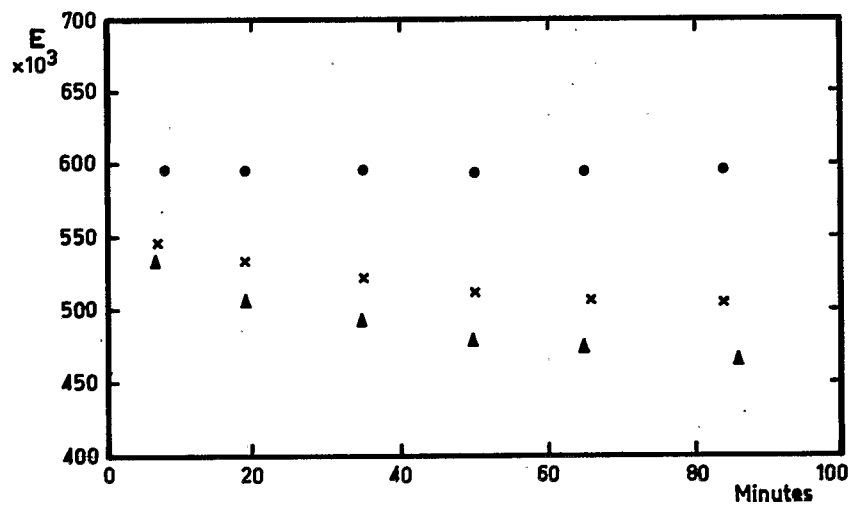


Fig. 3 : Méthode à l'acide ascorbique : Evolution de l'extinction

en erlenmeyer : •

en flacons polyéthylène : x

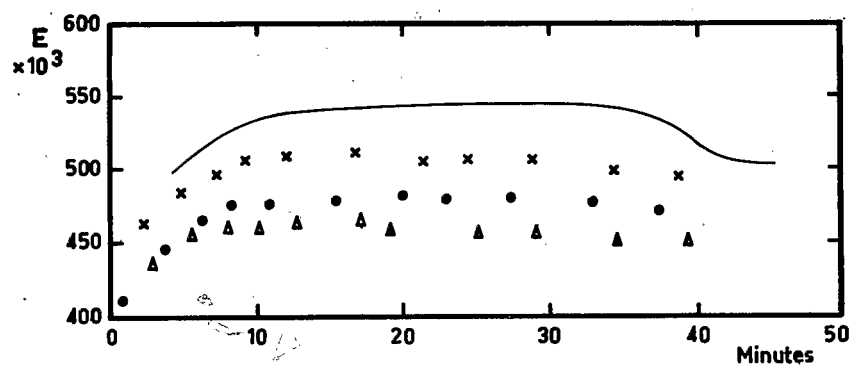


Fig. 4 : Méthode au chlorure stanneux : Evolution de l'extinction dans trois flacons en polyéthylène neufs comparée à celle observée en erlenmeyers.
 flacons polyéthylène : • x Δ
 erlenmeyer : —

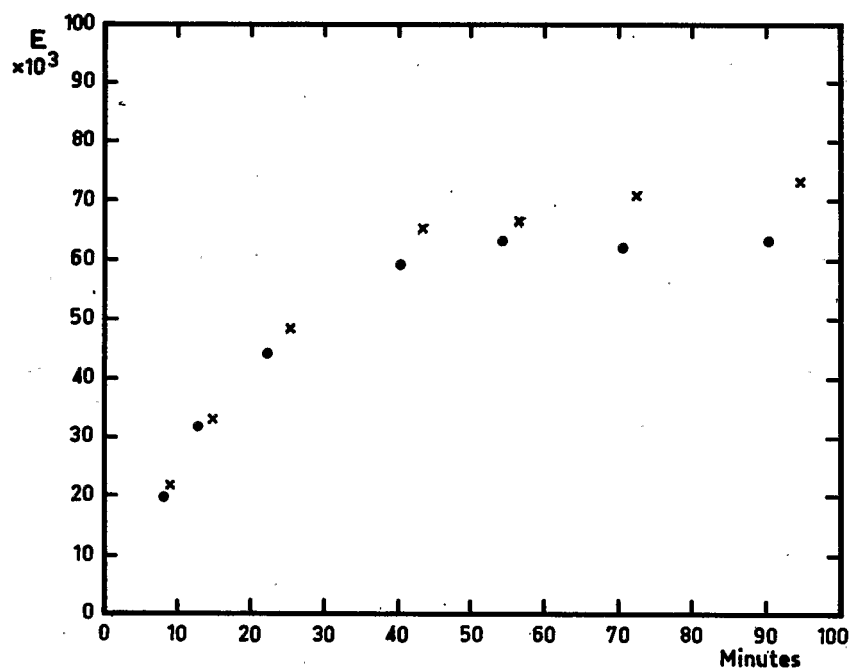


Fig. 5 : Méthode au chlorure stanneux : Evolution du témoin des réactifs.

durée à celui que donne le complexe réduit dans un erlenmeyer, l'intensité de la couleur étant cependant moins grande (fig. 4). De même, dans la méthode à l'acide ascorbique, l'extinction d'une solution réduite stockée en polyéthylène commence à décroître 2 heures après l'addition des réactifs. Quant à l'absorption de l'ion PO_4 par le polyéthylène dans les flacons neufs, elle est négligeable et égale à celle mesurée en erlenmeyer. On peut donc conclure que le polyéthylène vieillit et que ses propriétés se modifient en cours d'emploi. Mais peut-on parler d'une absorption, qui augmente avec le temps, du complexe bleu par le polyéthylène alors qu'il n'est pas possible de mettre en évidence une résorption, même si les flacons vieillissants prennent la teinte gris bleu d'un dépôt. Il pourrait aussi bien y avoir une inhibition de la formation de la couleur par ce dépôt sur les parois du flacon. Il est à remarquer enfin que ce dépôt ne part pas par lavage à l'acide fluorhydrique 1 %, et qu'un tel lavage ne modifie ni l'intensité de la couleur, ni sa stabilité.

Des erlenmeyers lavés à l'acide fluorhydrique 1 % se sont avérés préférables à tous autres flacons. La dispersion des mesures pour une même concentration en phosphate devient alors très faible.

ETUDE COMPARATIVE DES DEUX METHODES DE DOSAGE DU PHOSPHATE DANS L'EAU DE MER

Les couleurs furent développées dans des erlenmeyers lavés avec de l'acide fluorhydrique. Pour l'analyse par la méthode au chlorure stanneux, la lecture de l'extinction était faite au moins 10 minutes et au plus 20 minutes après l'addition des réactifs sauf pour les faibles concentrations pour lesquelles la lecture eut lieu 15 minutes au moins après l'addition des réactifs. Un même échantillon d'eau de mer enrichie en phosphate monopotassique fut analysé 10 fois par chaque méthode. Quatre échantillons ont été ainsi analysés, les concentrations en phosphate ajoutées étant approximativement 0,2 - 0,4 - 1,0 et 2,4 mat-g $\text{PO}_4\text{-P}/\text{m}^3$. De plus, au cours des divers essais sur ces 2 méthodes, des mesures en double sur une même eau de mer enrichie ou non ont permis de faire des comparaisons supplémentaires et de calculer des précisions relatives à partir des écarts entre les doubles.

Précisions relatives

Avec une réduction par le chlorure stanneux, 40 mesures sur 4 solutions d'eau de mer enrichie ont donné un écart-type de 0,02 mat-g/ m^3 , quelle que soit la concentration. En prenant la moyenne de 2 mesures on atteint une précision au niveau de probabilité 95 %, égale à $\pm 0,03$ mat-g/ m^3 . L'emploi d'erlenmeyers permet donc d'atteindre une précision bien meilleure que celle obtenue avec le flaconnage plastique couramment utilisé et qui est de l'ordre de $\pm 0,06$ mat-g/ m^3 (ROTSCHI, 1960).

Avec l'acide ascorbique, l'écart-type calculé précédemment est de 0,01 mat-g/m³, ce qui donne, au niveau de probabilité 95 %, une précision de $\pm 0,015$ mat-g/m³ pour la moyenne de deux mesures. Les mesures faites au cours de la croisière CYCLONE II du "Coriolis" en mars 1967 où cette méthode a été utilisée pour la première fois, ont confirmé ce résultat.

Remarques sur la précision absolue des deux méthodes

Le calcul des concentrations à partir des coefficients d'étalonnage de chaque méthode a montré que pour une même eau de mer la méthode au chlorure stanneux donne des concentrations plus élevées que celles obtenues par la méthode à l'acide ascorbique ; la différence est de l'ordre de 0,2 mat-g/m³. Ce résultat est en accord avec celui donné par JONES et SPENCER (1963) et JONES (1965).

Cet écart est dû à ce que dans le calcul d'une concentration en phosphate on corrige l'extinction de la solution de celle des réactifs dans l'eau distillée ; cette correction est de l'ordre de $20 \cdot 10^{-3}$ dans la méthode au chlorure stanneux et de $8 \cdot 10^{-3}$ dans celle à l'acide ascorbique. Mais dans la première méthode, il semble que la façon d'obtenir ce témoin des réactifs ne soit pas satisfaisante ; en effet, un enregistrement en fonction du temps de la variation de l'extinction due aux réactifs montre qu'il y a croissance régulière pendant 2 heures puis augmentation très rapide (fig.5). Il est donc incorrect de prendre comme témoin des réactifs l'extinction lue 10 minutes après l'addition des réactifs dans l'eau distillée. JONES et SPENCER (1963) et KUENZLER et al. (1963) ont préparé des témoins de réactifs avec de l'eau de mer complètement appauvrie biologiquement en phosphate ; ces témoins donnent une extinction plus forte que l'eau distillée et les résultats fournis dans ce cas là par la méthode au chlorure stanneux seraient comparables à ceux fournis par la méthode à l'acide ascorbique.

CONCLUSIONS

Bien que dans un travail de routine en mer, la méthode à l'acide ascorbique soit un peu plus compliquée que celle au chlorure stanneux, ses avantages qui sont essentiellement une meilleure précision et une plus grande stabilité de la couleur lorsque toutes les manipulations sont faites dans du verre Pyrex, la rendent préférable à toute autre.

BIBLIOGRAPHIE

- HASSENTEUFEL (W.R.), JAGITSCH and KOCZY (F.F.), 1963 - Impregnation of glass surface against absorption of phosphate traces. *Limnol. and Oceanogr.*, 8, 2, pp.152-156.
- JONES (P.G.W.), 1965 - Comparison of several methods of determining inorganic phosphate in sea water. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 46, 1, pp.19-32.
- JONES (P.G.W.) and SPENCER (C.P.), 1963 - Comparison of several methods of determining inorganic phosphate in sea water. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 43, 1, pp.251-273.
- KUENZLER (E.J.), GUILLARD (R.R.L.) and CORWIN (N.), 1963 - Phosphate free sea water for blanks in chemical analysis. *Deep Sea Res.*, 10, pp.749-755.
- MURPHY (J.) and RILEY (J.P.), 1962 - A modified simple solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 26, pp.31-36.
- REED (J.H.) and ROGERS (L.B.), 1965 - Absorption of ions in dilute aqueous solutions on glass and plastic surfaces. *An. Chem.* 37, 7, pp.863-868.
- ROTSCHI (H.), 1960 - Sur la détermination colorimétrique du phosphate. *Cahiers Océanographiques*, XII, 7, pp.470-482.
- ROTSCHI (H.) et al., 1967 - Résultats des observations physico-chimiques de la croisière ALIZE du N.O. CORIOLIS ORSTOM. *Rap. Sc. N° 2*, 55 p.
- STRICKLAND (J.D.H.) and PARSONS (T.R.), 1965 - A manual of sea water analysis. *Fish. Res. Board of Canada. Bull. N° 125* (deuxième édition), pp.47-54.
- WOOSTER (W.S.), RAKESTRAW (N.W.), 1951 - The estimation of dissolved phosphate in sea water. *Journ. Mar. Res.*, X, 1, pp. 91-100.

551.464.6